



TITLE:

内毒素血症時の骨髓細胞および末梢白血球の組織因子活性(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

平田, 陸正

---

CITATION:

平田, 陸正. 内毒素血症時の骨髓細胞および末梢白血球の組織因子活性 (Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1986, 16: 58-59

ISSUE DATE:

1986-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/163618>

RIGHT:

ン血液からデキストラン沈降及び溶血処理により赤血球を除去して得た。 $O_2^-$ 産生はチトクロムCの還元により測定した。(結果及び考察) I. チモールはヒト好中球の $O_2^-$ 産生を1 mM 以上で濃度依存性にひきおこした。この活性はスーパーオキシドディスムターゼによって完全に阻害されたが、1 mM KCNには全く影響されなかった。この結果はチモールがヒト好中球のCN耐性の酸素代謝を刺激することを示す。II. ヒト11例、チンパジー6例、ニホンザル4例、マントヒヒ4例、オランウータン1例の好中球について2 mM チモールの活性を比較した。活性はヒト>チンパジー・マントヒヒ>ニホンザル・オランウータンの順であった。ヒトの平均値(3.8 nmol/分/ $10^6$ 細胞)とチンパジー・マントヒヒの平均値の差は危険率0.01で有意、ニホンザルとの差は危険率0.001で有意であった。オランウータンはほとんど活性を示さなかった。一方多くの動物種の好中球 $O_2^-$ 産生を強力に刺激するプロモーター物質、テトラデカノイルホルボールアセテートの活性はヒト、ニホンザル、マントヒヒ、オランウータン共に約8 nmol/分/ $10^6$ 細胞でほとんど差がなかった。チンパジーはやや低値だがヒトとの差は危険率0.05であった。この結果からチモールによる $O_2^-$ 刺激能の種差は好中球の全 $O_2^-$ 産生能の差ではなく、チモールの刺激応答の差によると考えられる。又、チモールの刺激能はヒトに至る霊長類の進化の方向と必ずしも一致しないことが分かった。

#### 霊長類免疫担当細胞のウイルス感受性と細胞株の樹立

石田貴文(東大・理)

血液細胞は他器官の細胞と較べ、一般に、採取が容易な上、起原の明らかな細胞株が得られることが多い。それらの細胞株は、遺伝学・分子生物学研究での材料となるばかりでなく、*in vitro*における免疫学・ウイルス学的検索の対象にもなり得る。それらの点に鑑み、各種霊長類よりリンパ芽球細胞株を樹立し、多重利用可能な細胞バンク設立への足掛かりを得ることを目的とし研究を進めた。

細胞株樹立には、細胞増殖因子、腫瘍ウイルス等も補助的に用い、細胞の増殖を促した。樹立された細胞株については、核型・膜抗原・ウイルス関連抗原の検索をおこない、生物種・細胞型・ウイルス感染の有無を同定し、細胞株としての性状を明らかにした。樹立された細胞株は、以下の60株である。

類人猿	チンパンジー	1種18株
	オランウータン	1種4株
	テナガザル	3種10株
	旧世界ザル	マカク 1種9株
旧世界ザル	オナガザル	1種2株
	ヒヒ	1種1株
	パタスモンキー	1種3株
	コロブス	1種1株
	ランゲール	2種12株
新世界ザル	ルトン	2種3株
	クモザル	1種1株
	マーモセット	1種1株

これら60株の殆んどはB細胞株で、T細胞株はニホンザル、クモザル、マーモセットより株化された。ウイルス感染の有無は、T細胞指向性レトロウイルス、 $\gamma$ ヘルペスウイルスについて検索し、それぞれ陽性細胞株を確認している。詳しい検索は、モノクローナル抗体、核酸ハイブリット法を用いて継続しているところである。

#### 内毒素血症時の骨髓細胞および末梢白血球の組織因子活性

平田陸正(岩手医大)

ヒトのグラム陰性菌感染症において播種性血管内凝固(DIC)の合併症が問題となっている。著者は、グラム陰性菌の表層物質である内毒素(リポ多糖)投与によりマウス骨髓細胞の組織因子(TF)活性が高まることを認め、内毒素性DICにおけるTFの役割に注目してきた。60年度共同利用研究で、ヒトのDIC疾患モデルとしてニホンザルを用い、内毒素血症時のTF活性を対照群と比較した。

方法: 骨髓、脾、および末梢血からそれぞれ単核球画分と多形核球画分を得、一定細胞数とした。TF活性はこれらの細胞について凝固法および蛍

光合成基質法で測定した。5, 10, 12月と3回に分け対照群2頭、内毒素投与群2頭の計4頭のサルを用いた。

結果 (1)対照実験(A) 凝固法: 骨髓の多形核球、単核球画分いずれもTF活性が認められたが、ホモゲナイズしたもの(Lysate)では見掛けの活性が低下し細胞2のままのもの(intact cell)がTF活性測定に適していた。TF活性は16000×gの沈渣(膜画分)に認められ、マウスの骨髓細胞の成績と相似であった。

(B) 合成基質法: 多形核球、単核球画分いずれもLysateの活性がintact cellの3~4倍高かった。しかし、前者の示す活性の40~60%が基質に対する直接作用によるものであった。(2)内毒素投与実験(A) 発熱性: *E. coli* 内毒素を1mg/kg投与し、ケタラル麻酔下で発熱性を調べると、1頭は投与4時間で2.2℃の体温上昇がみられたが(ExP1)、他の1頭は反応性がよく最大0.8℃であった(ExP2)。(B) 凝固法: ExP1の多形核球画分は対照の5.4倍にTF活性が増加したがExP2では対照群とほとんど変わらなかった(1.6倍)。(C) 合成基質法: ExP1では対照の2.3~4.4倍に高まったがExP2では対照と差がなかった。凝固法、合成基質法いずれでも脾の多形核球画分にTF活性が認められ内毒素投与で高まった。末梢血多形核球のTF活性はきわめて弱く、内毒素投与でも高まらなかった。以上、サルにおいても内毒素投与により骨髓の多形核球画分のTF活性が高まるのが凝固法、合成基質法いずれでも認められ、発熱性ともよく相関した。骨髓、脾、末梢血のTF活性の差などについて61年度に共同利用研究継続の予定である。

#### 霊長類における *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する研究

松本芳嗣・山田 稔(京府医大)

*Pneumocystis carinii* (Pc) 肺炎は、今日、ヒトにおける極めて重要な“日和見感染症”の一つとして注目を集めている。本肺炎はAIDS患者、移植あるいは癌等の治療のため強力な抗免疫療法を受けている患者、あるいは先天性免疫不全症の患者に併発する以外に、未熟乳幼児、栄養

失調児等にも発症することが知られている。Pcはヒト以外の種々の哺乳動物からも見出されている。実験用霊長類においても既にチンパンジー、ヨザル、マーモセット等にPc肺炎が知られているが、我が国の実験用霊長類におけるPcの浸淫状況は不明である。そこで今回は、1981年から1985年の5年間に京大霊長類研究所で死亡した10属17種128頭のサルについてPc感染の検索を行った。肺は10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し、切片を作製した。先ず、Chalvardjian and Grawe (1963)の方法によるtoluidine blue-o染色を施し、Pc cystのスクリーニングを行った。陽性例については更にGomori's methenamine silver nitrate (GMS)染色、HE染色およびGMS-HE二重染色標本作製した。GMS染色においてparenthesis-like bodyを有する典型的なcystを認めたとき、Pc感染陽性と判定した。その結果、*Macaca fuscata fuscata* (ニホンザル) 52頭中4頭(7.7%)、*M. fascicularis* (カニクイザル) 13頭中1頭(7.7%)にPc感染が認められた。その他の9属15種のサルについては、検査頭数が少なかったこともあるが全て陰性であった。陽性個体について、感染程度をWalzer et al. (1979)に従って0.5+~4+に分類すると、5頭中2頭は1+、3頭は0.5+と何れも軽度の感染であり、Pc感染が主たる死亡原因とは考えられなかった。病理組織学的には1+の2頭に肺胞中隔の肥厚、間質の単核細胞浸潤、および肺胞への大食細胞の浸潤が認められた。Pcのcystは肺胞壁に付着して、散在し、あるいは小集塊を形成していた。陽性個体は何れも若令サルで、内2頭は1才以下であった。また、3頭については死亡時、消瘦が著しかったことが注目された。

#### 課 題 14

本年度は採択なし。

#### 課 題 15